

530, 874  
Rec'd CT/PTO 11 APR 2005

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
29. April 2004 (29.04.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2004/035692 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C09B 67/00, C12P 19/00, A61K 7/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/010399

(22) Internationales Anmeldedatum: 18. September 2003 (18.09.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität: 102 46 965.2 9. Oktober 2002 (09.10.2002) DE

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): MERCK PATENT GMBH [DE/DE]; Frankfurter Strasse 250, 64293 Darmstadt (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): MOESCHL, Gernot [DE/DE]; Falltorstrasse 20, 64331 Weiterstadt (DE). WARTHE, Doreen [DE/DE]; Oberndorfer Strasse 85, 64347 Griesheim (DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: MERCK PATENT GMBH; Frankfurter Strasse 250, 64293 Darmstadt (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

WO 2004/035692 A1

(54) Title: PEARL ESSENCE ANALOGOUS NACREOUS PIGMENTS PRODUCED BY ENZYMATIC REACTION

(54) Bezeichnung: FISCHSILBERANALOGE PERLGLANZPIGMENTE, HERGESTELLT DURCH ENZYMATISCHE UMSETZUNG

(57) Abstract: The invention relates to pearl essence analogous nacreous pigments produced by enzymatic reaction of nucleosides and/or nucleotides, methods for the production thereof and the use of said pearl essence analogous nacreous pigments..

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft fischsilberanaloge Perlglanzpigmente, hergestellt durch enzymatische Umsetzung von Nucleosiden und/oder Nucleotiden, Verfahren zu deren Herstellung sowie die Verwendung der fischsilberanalogen Perlglanzpigmente.

**Fischsilberanaloge Perlglanzpigmente, hergestellt durch  
enzymatische Umsetzung**

Die vorliegende Erfindung betrifft fischsilberanaloge Perlglanzpigmente,  
5 hergestellt durch enzymatische Umsetzung von Nucleosiden und/oder  
Nucleotiden, Verfahren zu deren Herstellung sowie die Verwendung der  
fischsilberanalogen Perlglanzpigmente.

Das erste Perlglanzpigment war das natürliche Fischsilber, das aus  
10 Fischschuppen gewonnen wird und aus den zwei Purinen Guanin (75-97%)  
und Hypoxanthin (3-25%) besteht. Als ergiebigste Rohstoffquellen sind die  
Schuppen von Hering, Ukelei und Sardine zu nennen. Die flächenartigen  
Pigmentkristalle werden aus wässrigen Dispersionen von Fischschuppen  
mit organischen Lösungsmitteln extrahiert. Dabei werden die Proteine  
15 herausgelöst und die Kristalle von den Schuppen getrennt. Die Guanin-  
und Hypoxanthinkristalle werden durch Zentrifugieren isoliert. Zum  
Entfernen löslicher Proteine und Fischöle werden die plättchenförmigen  
Kristalle abschließend gewaschen.

20 Natürliches Fischsilber kristallisiert bevorzugt in Nadeln, länglichen oder  
auch sechseckigen Blättchen, die 1 bis 10 µm breit, 20 bis 50 µm lang und  
nur 25 bis 75 nm dick sind. Weiterhin treten pyramidenförmige Kristalle auf  
(Kantenlänge ca. 10-30 µm). Die optisch anisotropen Kristalle haben eine  
Brezahl von ca. 1.8 und eine vergleichsweise niedrige Dichte von 1.6  
25 g/cm<sup>3</sup>.

Da die Fischschuppen weniger als 1% des Pigments enthalten und zudem  
die Gewinnung sehr aufwendig ist, sind die Preise für natürliches  
Fischsilber vergleichsweise hoch. Weiterhin kommt es zum Auftreten von  
30 Qualitätsschwankungen, die einen Einsatz des natürlichen Fischsilbers als  
Ausgangsstoff in der modernen Industrie unmöglich machen. Der relativ

hohe Anteil an Verunreinigungen führt bei der Lagerung zu einer  
Gelbfärbung und zur Entwicklung von Fischgeruch. Zusätzlich ist das  
Pigment im trockenen Zustand mechanisch sehr empfindlich und neigt zur  
Agglomeration. Es kommt daher nur in Form von Suspensionen mit meist  
5 10 bis 12% Feststoffgehalt unter dem Namen „Perlessenz“ oder „Essence  
d’Orient“ in den Handel.

Die aufgrund der geringen Dichte erhaltene geringe Absetzneigung und der  
bereits bei Zusatz geringer Mengen auftretende seidige und perlenmäßige  
10 Glanz ist die Ursache dafür, dass sich Fischsilber trotz der oben genannten  
Nachteile bis heute in kosmetischen Formulierungen behaupten kann. Das  
Haupteinsatzgebiet sind Nagellacke wegen der geringen Sedimentations-  
neigung und da der dort verwendete Nitrocellulose-Lack den Fischgeruch  
überdeckt.

15 Es hat einige Versuche gegeben, Guanin bzw. andere stickstoffhaltige  
Heterocyclen in Form plättchenförmiger Kristalle abzuscheiden, um  
fischsilberanaloge Pigmente herzustellen. Die Steuerung der Kristallisation  
in Richtung plättchenförmiger Kristalle ist zwingend zur Erzielung eines  
20 Glanzeffektes erforderlich, kann aber bislang nur schwer realisiert werden.

Die DE 1 242 778 beschreibt ein Verfahren zur Umwandlung von  
verdampfbaren Substanzen wie z.B. Guanin in Plättchen mittels  
Vakuumsublimation. Dieses Verfahren ist sehr aufwendig und ist wegen  
25 der apparativen Anforderungen nur für die Darstellung geringer Mengen an  
Pigment geeignet.

Aus der DE 1930265 ist ein Verfahren zur Herstellung synthetischer  
perlmutterglänzender Pigmente bekannt, wobei Nucleinbasen, Nucleoside  
30 oder Nucleotide aus Lösung kristallisiert werden. Dabei wird 1/5 bis 3/4 der  
in der wässrigen Lösung vorhandenen Nucleinverbindung im Verlauf von  
30 Minuten auskristallisiert, und die so erhaltenen Kristalle werden 1 bis 24

Stunden reifen gelassen. Die Steuerung der Kristallisation kann über mehrere Parameter wie pH-Wert, Temperatur oder Art der Lösungsmittel erfolgen. Dieses Verfahren ist wegen dieser Vielzahl an Parametern nur schlecht zu reproduzieren. Zusätzlich ist die Löslichkeit der

5 Nucleinverbindungen problematisch. So sind die Nucleinbasen aufgrund ihres amphoteren Charakters nur in starken Säuren oder Basen als entsprechende Salze löslich. Die Löslichkeit nimmt bei extremen pH-Werten (um pH 0 oder pH 14) stark zu und ist im Neutralbereich am geringsten (pH 4.5-8). Bei Auflösung der Kristalle durch pH-Wert-Änderung  
10 werden die jeweiligen Ionen wirksam, die auch in das Kristallgitter eingebaut werden. Die kristallisierten Salze reagieren bei Auflösung stark basisch oder sauer. Bei der Neutralisierung entstehen durch Entfernung der (Alkali)-Kationen oder Säureanionen aus dem Kristallgitter unregelmäßige Fällungen von „geschrumpfter Struktur“ ohne  
15 Oberflächenglanz.

Es bestand daher die Aufgabe, fischsilberanaloge Perlglanzpigmente bereitzustellen, die die oben genannten Nachteile des natürlichen Fischsilbers nicht aufweisen, aber einen mit dem natürlichen Fischsilber  
20 vergleichbaren Glanz und ein vergleichbares Aussehen aufweisen. Darüber hinaus bestand die Aufgabe in der Bereitstellung eines einfachen Verfahrens zur Herstellung fischsilberanaloger Perlglanzpigmente in guten Ausbeuten und mit hoher Reinheit und Stabilität.

25 Überraschenderweise wurde gefunden, dass die erfindungsgemäßen fischsilberanalogen Perlglanzpigmente und das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung dieser fischsilberanalogen Perlglanzpigmente das eingangs geschilderte komplexe Anforderungsprofil erfüllen.  
30 Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind daher fischsilberanaloge Perlglanzpigmente, hergestellt durch enzymatische Umsetzung von

Nucleosiden und/oder Nucleotiden unter Bildung der Nucleobasen in Form plättchenförmiger Kristalle.

Weiterhin ist Gegenstand der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Herstellung fischsilberanaloger Perlglanzpigmente, dadurch

5 gekennzeichnet, dass Nucleoside und/oder Nucleotide in ein oder mehreren Schritten enzymatisch unter Bildung der Nucleobasen in Form plättchenförmiger Kristalle umgesetzt werden.

Die erfindungsgemäßen fischsilberanalogen Perlglanzpigmente zeichnen

10 sich durch einen naturgleichen Glanz, gute Oberflächenglätte, hohen Brechungsindex und eine hohe mechanische Stabilität aus. Eine Gelbfärbung oder die Entwicklung von Fischgeruch treten bei den erfindungsgemäßen fischsilberanalogen Perlglanzpigmenten nicht auf. Das erfindungsgemäße Verfahren bietet einen einfachen Zugang zu diesen

15 fischsilberanalogen Perlglanzpigmenten. Durch die Verwendung von Enzymen laufen die Reaktionen alle in der Nähe des Neutralpunktes ab, so dass keine störenden Kationen oder Anionen in das Kristallgitter eingebaut werden. Weiterhin führt die Verwendung enzymatischer Reaktionen zu einem gleichmäßigen Aufbau der plättchenförmigen Kristalle, die zu

20 Pigmenten hoher Qualität und Einheitlichkeit führen.

Die im erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzten Nucleoside oder Nucleotide können alle dem Fachmann bekannten Pyrimidin- und/oder Purinbasen sowie weitere heterocyclische Verbindungen dieses Typs

25 enthalten, wie z.B. Guanin, Hypoxanthin, Adenin, Cytosin, Uracil und/oder Thymin. Vorzugsweise werden Purinbasen-haltige Nucleoside bzw. Nucleotide verwendet, insbesondere aber Guanin- und/oder Hypoxanthin-haltige Nucleoside bzw. Nucleotide.

30 Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren erfolgt die enzymatische Umsetzung mittels einer Hydrolase, einer Transferase (int. Enzymklassifikation 2.4, 3.1 und 3.2) oder mittels eines

Fischschuppenextraktes. Bevorzugt eingesetzt werden Naringinase, Hesperidinase, Nucleotidase,  $\beta$ -Amylase, Nucleosidase, Inosinase und NAD-ase, darüber hinaus Pentosyl-Transferasen, insbesondere Pyrophosphat-Phosphoribosyltransferasen und Purin-

5 nucleosidphosphorylase sowie weitere dem Fachmann bekannte in ähnlicher Weise wirkende Enzyme allein oder in Form eines Gemisches. Die Enzyme können dabei auf alle dem Fachmann bekannten Arten und Weisen gewonnen sein, z.B. durch mikrobiologische, chemische oder extrahierende Verfahren. So eignet sich für die Durchführung des

10 erfindungsgemäßen Verfahrens neben den in der Regel mikrobiologisch hergestellten Einzelenzymen auch ein Fischschuppenextrakt, der neben anderen Bestandteilen die oben genannten Enzyme enthält. Dieser Extrakt wird aus den Fischschuppen und der Fischhaut durch wässrige Extraktion bei neutralem pH erhalten und anschließend gefriergetrocknet. Das dabei

15 erhaltene Pulver enthält neben anderen Eiweißanteilen die in dem erfindungsgemäßen Verfahren einsetzbaren Enzyme. Die Enzyme oder der Fischschuppenextrakt können in beliebiger Form, vorzugsweise in wässriger Lösung, zugesetzt werden.

20 Bei der Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens werden die Nucleoside/Nucleotide unter Rühren in Wasser gelöst. Der pH-Wert der Lösung wird auf einen Bereich von 3.5 bis 8.0 eingestellt. Der bevorzugte pH-Wert liegt im Bereich von 4.4 bis 7.0. Eine Optimierung des pH-Wertes der Reaktionsmischung kann in für den Fachmann naheliegender Weise

25 erfolgen.

Die Einstellung des pH-Wertes der Lösung erfolgt durch Zugabe von Pufferlösungen. Als Pufferlösungen können alle dem Fachmann bekannten Puffer wie z.B. Acetat-, Citrat- oder Phosphatpuffer eingesetzt werden.

30 Bevorzugt werden Citratpuffer, insbesondere Natriumcitratpuffer eingesetzt.

Die Temperatur der Lösung wird auf einen Bereich von 20 bis 75 °C eingestellt. Bevorzugte Temperaturbereiche liegen bei 30 bis 60 °C und können in für den Fachmann naheliegender Weise an den optimalen Arbeitsbereich der eingesetzten Enzyme angepasst werden.

- 5 Die in dem erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzten Enzyme bzw. der Fischschuppenextrakt werden der so hergestellten Nucleosid/Nucleotid-Lösung zugegeben. Bevorzugt erfolgt die Zugabe der Enzyme Enzyme bzw. des Fischschuppenextraktes in Lösung, insbesondere in wässriger Lösung. In einer besonderen Ausführungsform kann die enzymhaltige
- 10 Lösung mit üblichen Zusatzkonzentrationen an Konservierungsmittel stabilisiert werden. Es können alle gängigen Konservierungsmittel eingesetzt werden, wie z.B. Sorbinsäure und ihre Derivate, bevorzugt erfolgt die Konservierung mit Sorbinsäure.
- 15 Die Menge des eingesetzten Enzyms richtet sich nach der gewünschten Bildungsgeschwindigkeit der fischsilberanalogen Perlglanzpigmente unter Berücksichtigung der Umsatzzahl des eingesetzten Enzyms. Sie kann durch einfache Optimierung an die jeweiligen Bedürfnisse angepasst werden. In einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Zugabe des
- 20 Enzyms in mehreren Schritten bei abnehmender Zahl der Enzymeinheiten im Verlauf der Reaktion. Die Umsetzungsdauer beträgt zwischen 5 und 120 Stunden, bevorzugt 12 bis 72 und insbesondere 12 bis 36 Stunden.

Um eine verbesserte Kristallisation der fischsilberanalogen Perlglanzpigmente zu erreichen, kann bereits so hergestelltes oder auch natürliches Fischsilber zur Animpfung der Reaktionslösung zugesetzt werden.

Weiterhin können in dem erfindungsgemäßen Verfahren zur Steuerung der

- 30 Oberflächen- und Kristallstruktur der fischsilberanalogen Perlglanzpigmente grenzflächenaktive Substanzen der Reaktionsmischung zugesetzt werden. Hierzu können alle dem Fachmann bekannten nichtionischen

und/oder ionischen Tenside eingesetzt werden, wie sie z.B. in K. Lindner, Tenside, Textilhilfsmittel, Waschrohstoffe, Vol. I, Wissenschaftl. Verlags GmbH, Stuttgart 1964 beschrieben sind und u.a. von der Fa. ICI erhältlich sind. Bevorzugt eingesetzt werden Polyalkylenglycole und Polysorbate, wie z.B. Nonylphenolpolyglycolether, Sorbitanmonolaurate (ethoxyliert) oder auch höherkettige Alkylate, wie z.B. Myristate, Palmitate oder Stearate.

In einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens können gelbildende polymere Substanzen zur Unterstützung der flächenartigen Kristallausbildung und zur Erzeugung hoher Oberflächenglätte eingesetzt werden. Hierzu können alle dem Fachmann bekannten Gelbildner eingesetzt werden, wie z.B. Alginate, Gelatine und Gelatinederivate, Cellulose und Cellulosederivate, Polyosen oder Stärke und Stärkederivate. Bevorzugt eingesetzt werden Alginate, Gummi arabicum, Gelatine und Gelatinederivate und insbesondere Xanthan Gum.

Zusätzlich kann die Reaktionsmischung mit Farbmitteln versetzt werden, die zu einer Einfärbung der fischsilberanalogen Perlglanzpigmente führt. Als Farbmittel eignen sich alle dem Fachmann bekannten organischen Farbmittel wie z.B. natürliche oder synthetische Farbstoffe bzw. Pigmente. Bevorzugt werden wasserlösliche, natürliche Farbstoffe eingesetzt, wie z.B. Karmin oder Chlorophyllin.

Die Isolierung der Kristalle kann nach allen dem Fachmann bekannten Verfahren erfolgen. Bevorzugt erfolgt eine Isolierung der Kristalle über einfaches oder mehrfaches Zentrifugieren der Reaktionsmischung und anschließendes Waschen der Kristalle, bevorzugt mit Wasser. Zur weiteren Verwendung können die fischsilberanalogen Perlglanzpigmente getrocknet werden.

Die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren erhaltenen fischsilberanalogen Perlglanzpigmente zeigen einen mit natürlichem Fischsilber

vergleichbaren Glanz bei gleichzeitiger verbesserter Zugänglichkeit. Die bei natürlichem Fischsilber auftretenden Nachteile wie Gelbstichigkeit oder Fischgeruch treten bei den erfindungsgemäßen Perlglanzpigmenten nicht auf. Weiterhin lassen sich die erfindungsgemäß hergestellten

5 fischsilberanalogen Perlglanzpigmente in trockener Form einsetzen und anwenden, was neben der Verwendung in der für Fischsilber etablierten Kosmetik auch andere Anwendungsbereiche eröffnet, wie z.B. technische Anwendungen. Darüber hinaus erweisen sich die erfindungsgemäßen fischsilberanalogen Perlglanzpigmente, ähnlich wie natürliches Fischsilber,

10 als mechanisch stabiler als andere anorganische, plättchenförmige Effektpigmente, z.B. auf oxidischer Basis. Daraus resultiert eine Verbesserung der Einarbeitungsmöglichkeiten gegenüber den anorganischen Effektpigmenten. Darüber hinaus ist die für die Erzielung eines Perlglanzeffektes nötige Menge an erfindungsgemäßen

15 fischsilberanalogen Perlglanzpigmenten geringer als bei Pigmenten auf oxidischer oder metallischer Basis.

Somit ist auch die Verwendung der erfindungsgemäßen fischsilberanalogen Perlglanzpigmente in Farben, Lacken, Druckfarben, Kunststoffen, kosmetischen Formulierungen, im Lebensmittelbereich, in Papier, in Sicherheitsmaterialien, in Agrarfolien, zur Saatguteinfärbung, zur Lebensmitteleinfärbung oder in Arzneimittelüberzügen, in Trockenpräparaten oder in Pigmentpräparationen Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

25 Im Falle von kosmetischen Formulierungen eignen sich die erfindungsgemäßen Pigmente besonders für Produkte der dekorativen Kosmetik, wie z.B. Nagellacke, fargebende Puder, Lippenstifte oder Lidschatten. Analoge Beispiele für die Anwendung von anorganischen Effektpigmenten in kosmetischen Formulierungen und hierfür geeignete Materialien sind in Resarch Disclosure, RD 471001, beschrieben. Die dort

30

beschriebenen Effektpigmente lassen sich vorteilhaft durch die erfindungsgemäßen fischsilberanalogen Perlglanzpigmente ersetzen.

Bei Einsatz der Pigmente in Lacken und Farben sind alle dem Fachmann  
5 bekannten Anwendungsbereiche möglich, wie z.B. Pulverlacke,  
Automobillacke, Druckfarben für den Tief-, Offset-, Sieb- oder Flexodruck  
sowie für Lacke in Außenanwendungen. Darüber hinaus können die  
erfindungsgemäßen Pigmente zur Pigmentierung von Folien und  
Kunststoffen verwendet werden, so z.B. für Agrarfolien, Geschenkfolien,  
10 Kunststoffbehältnisse und Formkörper für alle dem Fachmann bekannten  
Anwendungen. Außerdem eignen sich die erfindungsgemäßen Pigmente  
auch für den Einsatz im Sicherheitsdruck und in sicherheitsrelevanten  
Merken für z.B. fälschungssichere Karten und Ausweise, wie  
beispielweise Eintrittskarten, Personalausweise, Geldscheine, Schecks und  
15 Scheckkarten sowie für andere fälschungssichere Dokumente. Darüber  
hinaus eignen sich die erfindungsgemäßen Pigmente zur Herstellung  
pharmazeutischer Produkte wie z.B. Tablettenüberzügen oder als  
Pulverzusatz sowie im Lebensmittelbereich zur Einfärbung von  
Nahrungsmitteln. Weiterhin eignen sich die erfindungsgemäßen  
20 Effektpigmente für die Herstellung von Pigmentpräparationen wie  
beispielsweise Pearlets, Pasten und Anteigungen sowie von  
Trockenpräparaten, wie z.B. Pellets, Granulaten, Chips etc, die  
vorzugsweise in Druckfarben und Lacken verwendet werden. Die  
erfindungsgemäßen Pigmente lassen sich in einer Vielzahl der bekannten,  
25 in Farbsystemen angewendeten Bindemittel einsetzen und sind sowohl in  
wässrigen als auch in Systemen auf Lösungsmittelbasis anwendbar. Die  
Einarbeitung der Pigmente in die jeweiligen Applikationsmedien kann nach  
allen dem Fachmann bekannten Verfahren erfolgen.  
  
30 Darüber hinaus können die erfindungsgemäßen Effektpigmente auch in  
vorteilhafter Weise mit allen bekannten organischen und/oder  
anorganischen Farbstoffen gemischt werden, wie z.B. organischen

- 10 -

Farbstoffen, organischen Pigmenten, anorganischen Ein- oder Mehrschichtpigmenten, anorganischen Farbstoffen oder Pigmenten.

Gegenstand der Erfindung sind demgemäß auch Farben, Lacke,  
5 Druckfarben, Kunststoffe, kosmetische Formulierungen, Lebensmittelprodukte, Papier, Sicherheitsmaterialien, Agrarfolien, Saatgut, Lebensmittel oder Arzneimittel, Trockenpräparate oder Pigmentpräparationen enthaltend die erfindungsgemäß und nach dem erfindungsgemäß Verfahren hergestellten fischsilberanalogen  
10 Perlglanzpigmente.

Die nachfolgenden Beispiele sollen die Erfindung näher erläutern, ohne sie jedoch zu begrenzen.

15 **Beispiele:**

Beispiel 1:

1.0 g Guanosinmonophosphat-Natriumsalz-Heptahydrat (E 627) und 0.25 g Inosinmonophosphat-Natriumsalz (E 631) werden in 150 ml demin. Wasser gelöst und mit 250 mg Magnesiumsulfat und 2.5 g tetra-Natriumdiphosphat sowie 20 mg Nonylphenolpolyglycolether versetzt. Man impft mit wenig Fischsilber an, z.B. 10 bis 20 mg, um die Kristallbildung zu beschleunigen.  
20 Die leicht basische Lösung wird mit 10 %iger Citronensäure auf einen pH-Wert von 7.2 eingestellt und das Volumen der Lösung auf 200 ml aufgefüllt. Dann werden ca. 20 U Purinpyrophosphatphosphoribotransferase (2.4.2.8.), gelöst in wenig Wasser, zugegeben. Die Lösung wird auf 40°C erwärmt und in einer geschlossenen Apparatur langsam gerührt. In den ersten 10 Stunden werden stündlich je 8 U des Enzyms kontinuierlich zudosiert. In den weiteren 48 Stunden wird die Zudosierung stufenweise  
25 auf 4 und später auf 2 U reduziert. Die Enzymlösung ist mit 0,05 % Sorbinsäure konserviert.  
30

Es entstehen hochglänzende, sehr dünne Kristallblättchen unterschiedlicher Größe, größenordnungsmäßig im Bereich von 5-30 µm Länge und 2-12 µm Breite. Die praktisch wasserunlöslichen feinen Laminate werden abzentrifugiert, dreimal mit demin. Wasser gewaschen  
5 und schonend getrocknet. (Anfallende Menge ca. 320mg).

Beispiel 2:  
Wie Beispiel 1, unter Verwendung von Purinnucleosidphosphorylase  
10 (2.4.2.1)

Beispiel 3:  
7.5 g Guanosinmonophosphat-Na-Salz und 2.5 g Inosin/Guanosinmono-  
15 phosphat-Na-Salz (Gemisch 1:1) werden in 750 ml demin. Wasser gelöst. Dazu werden 250 ml einer Na-Citrat-Pufferlösung mit einem pH-Wert von 4.4 gegeben (Konz. an Citrat ca. 6 %). Dazu kommen die in wenig Wasser aufgelösten Enzyme Naringinase (Menge/Aktivität ca. 100 U) und Hesperidinase (Menge/Aktivität ca. 200 U). Zum besseren Kristallwachstum  
20 werden ca. 200 mg Ribosid zugegeben. Die Lösung wird im geschlossenen Reaktionsgefäß bei 44°C für ca. 24 Stunden langsam gerührt. Nach Ablauf der ersten 15 Std. wird nochmals die halbe Menge (50 U und 100 U) der o.a. Enzyme zugegeben.  
Es entstehen nadel- und laminatartige Kristalle mit hohem Perlglanzeffekt,  
25 die dreimal abzentrifugiert und mit demin. Wasser gewaschen werden. Sie sind schwerlöslich in Wasser und praktisch unlöslich in organischen Lösungsmitteln und können in dieser Form als Perlglanzpigmente eingesetzt werden.

**Beispiel 4:**

4 g Ribosid-Verbindungen aus Beispiel 3, berechnet auf die Trockenmasse, werden in 300 ml demin. Wasser dispergiert und mit 100 ml Citrat-Pufferlösung (ca. 6 % citrathaltig) auf einen pH-Wert von 6.4 eingestellt  
5 und unter langsamem Rühren auf 54°C erwärmt. Dazu kommen 0.02 % Sorbitanmonolaurat (ethoxyliert) und 0.1% Xanthan-Gum, berechnet auf die ca. 400 ml des Ansatzes. 150 U an  $\beta$ -Amylase (3.2.1.2.) werden als Startaktivität eingesetzt. In den folgenden 48-72 Stunden werden stündlich, anfangs 15, später 10, bzw. 5 U an Enzymaktivität eindosiert. Die  
10 Enzymlösung ist mit 0.05 % Sorbinsäure konserviert. Die Suspension wird mit ca. 40 mg feiner Fischsilberblättchen angeimpft.

Es entstehen rechteckige, hochglänzende und stark lichtbrechende Perlglanzpigmentplättchen von einer weit gefächerten flächenmäßigen Ausdehnung, z.B. von 3-20  $\mu\text{m}$  Breite bis 5-50  $\mu\text{m}$  Länge. Die sehr dünnen, laminatartigen Plättchen, deren Massenausbeute über 50 % liegt, werden zentrifugiert, gewaschen und schonend getrocknet. Alternativ können sie im letzten Waschprozess z.B. mit Aceton versetzt werden, um das anhaftende Wasser zu entfernen, und dann direkt in z.B.  
20 Cellulosenitrat oder z.B. Rizinusöl zu überführen. Diese Formulierungen können direkt für Anwendungen z.B. in Nagellacken oder Lippenkosmetika eingesetzt werden.

**Beispiel 5:**

4 g der gewaschenen Ribosid-Verbindungen aus Beispiel 4 werden in 400 ml demin. Wasser dispergiert und mit 100 ml Citratpuffer-Lösung (ca. 6% Citronensäure enthaltend) auf einen pH-Wert von 5.4 eingestellt. Dazu werden anfangs ca. 100 U an Nucleosidase (3.2.2.1.) eindosiert. Danach erfolgt die weitere Zudosierung der Enzymaktivitäten sehr langsam aus einer konservierten, verdünnten Enzymlösung, wie in Beispiel 4. Innerhalb  
30

von ca. 72 Stunden wird die Dosierrate von ca. 10 U auf 2 U/Stunde zurückgeregelt. Die Suspension wird mit ca. 40 mg Fischsilber angeimpft. Es entstehen hochglänzende, stark lichtbrechende Pigmentplättchen, die dem Fischsilber, gewonnen aus Hering oder Forelle sehr ähnlich sind. Es handelt sich überwiegend um längliche, am Ende abgerundete Laminate von 1-5 µm Breite und einer Länge 3 bis 12 µm. Sie können in Analogie zu Beispiel 4 isoliert und weiterverarbeitet werden.

10      **Beispiel 6:** Nagellack  
 98.50 Gew.-% Thixotrope Nagellack-Basis 1348 (Fa. International Laquers S.A., enthaltend Toluol, Ethylacetat, Butylacetat, Nitrocellulose, Tosylamid/Formaldehydharz, Dibutylphthalat, Isopropanol, Stearalkoniumhektorit, Campher, Acrylatcopolymer, Benzophenon) und 1.5 Gew.-% einer Dispersion gemäß Beispiel 4 (11 Gew-% fischsilberanaloge Perlglanzpigmente in Rizinusöl) werden zusammen abgewogen, mit einem Spatel mit der Hand vermischt und anschließend 10 min bei 1000 U/min gerührt. Man erhält einen Nagellack mit einem gleichmäßigen Perlglanz.

20

**Beispiel 7:** Lippenstift**Phase A**

|    | <u>Rohstoff</u>       | <u>Gew.-%</u> |
|----|-----------------------|---------------|
| 25 | Rizinusöl             | 63.85         |
|    | Bienenwachs           | 12.50         |
|    | Isopropylmyristat     | 8.00          |
|    | Carnaubawachs         | 7.50          |
|    | Lanolin               | 5.00          |
| 30 | Paraffin, dickflüssig | 3.00          |
|    | Propylparaben         | 0.10          |

- 14 -

|   |             |
|---|-------------|
| Oxynex® 2004 (Antioxidans der Fa. Merck KGaA) | <u>0.05</u> |
|   | 100.00      |

### Phase B

5 Dispersion gemäß Beispiel 4 enthaltend 11 Gew.-% fischsilberanaloge Perlglanzpigmente in Rizinusöl.

### Herstellung

10 Phase A wird auf 80°C erhitzt und gut gemischt, Phase B wird auf 60°C erwärmt. Anschließend werden 80 Gew.-% Phase A und 20 Gew.-% Phase B in einer Gießapparatur gemischt und auf etwa 60°C temperiert. Die homogene Schmelze wird in auf 60°C vorgewärmte Gießformen gegossen und abkühlen lassen. Die Gießlinge werden den Formen kalt entnommen und nach Erwärmen auf Raumtemperatur noch kurz abgeflämmt. Die Stifte 15 erzeugen auf der Haut einen gleichmäßigen Perlglanz.

### Beispiel 8: Lack

Auf ein hellgrundiertes Blech wird mittels Druckluftspritzen ein  
20 handelsüblicher Basislack auf der Basis von Acrylat/Melamin, gelöst in einem Butylacetat/Xylol- Gemisch, der 1.5 Gew.-% des Pigments aus Beispiel 1 enthält, appliziert. Nach 60 Sekunden Abluftzeit erfolgt die Auftragung eines Klarlacks auf Basis von Acrylat, der mit Isocyanat ausgehärtet wird.  
25 Man erhält eine gut deckende und glänzende Beschichtung.

**Patentansprüche**

1. Fischsilberanaloge Perlglanzpigmente, hergestellt durch enzymatische Umsetzung von Nucleosiden und/oder Nucleotiden unter Bildung der Nucleobasen in Form plättchenförmiger Kristalle.

5            2. Verfahren zur Herstellung fischsilberanaloger Perlglanzpigmente nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass Nucleoside und/oder Nucleotide in ein oder mehreren Schritten enzymatisch unter Bildung 10 der Nucleobasen in Form plättchenförmiger Kristalle umgesetzt werden.

15            3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Nucleosid und/oder Nucleotid ein Pyrimidin- und/oder Purinnucleosid/nucleotid ist.

15            4. Verfahren nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Nucleosid und/oder Nucleotid Guanin und/oder Hypoxanthin enthält.

20            5. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die enzymatische Umsetzung mittels einer Hydrolase, einer Transferase oder eines Fischschuppenextraktes erfolgt.

25            6. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die enzymatische Umsetzung mit den Enzymen Naringinase, Hesperidinase, Nucleotidase,  $\beta$ -Amylase, Nucleosidase, Inosinase, NAD-ase, Pyrophosphat-Phosphoribosyltransferase, Purinnucleosidphosphorylase oder mit einem Gemisch dieser durchgeführt wird.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 6, dadurch gekennzeichnet,  
dass das Enzym oder Enzymgemisch in mehreren Schritten mit  
abnehmenden Enzymeinheiten zudosiert wird.

5        8. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 7, dadurch gekennzeichnet,  
            dass zusätzlich grenzflächenaktive Substanzen zugegeben werden.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 8, dadurch gekennzeichnet,  
dass zusätzlich gebildende polymere Substanzen zugesetzt werden.

10      10. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 9, dadurch gekennzeichnet,  
            dass zusätzlich Farbstoffe zugesetzt werden.

11. Verwendung von fischsilberanalogen Perlglanzpigmenten gemäß  
15      Anspruch 1 in Farben, Lacken, Druckfarben, Kunststoffen,  
            kosmetischen Formulierungen, im Lebensmittelbereich, in Papier, in  
            Sicherheitsmaterialien, in Agrarfolien, zur Saatguteinfärbung, zur  
            Lebensmitteleinfärbung oder in Arzneimittelüberzügen, in  
            Trockenpräparaten oder in Pigmentpräparationen.

20      12. Farben, Lacke, Druckfarben, Kunststoffe, kosmetische Formulierungen,  
            Lebensmittelprodukte, Papier, Sicherheitsmaterialien, Agrarfolien,  
            Saatgut, Lebensmittel oder Arzneimittel, Trockenpräparate oder  
            Pigmentpräparationen enthaltend fischsilberanaloge Perlglanzpigmente,  
25      gemäß Anspruch 1.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

|                 |                  |
|-----------------|------------------|
| Intern          | I Application No |
| PCT/EP 03/10399 |                  |

|                                     |
|-------------------------------------|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER |
| IPC 7 C09B67/00 C12P19/00 A61K7/00  |

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C09B C12P A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
|----------|---|-----------------------|
| A        | DE 19 30 265 A (ASAHI CHEMICAL IND)<br>18 December 1969 (1969-12-18)<br>cited in the application<br>the whole document<br>----- | 1-12                  |

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the International filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

|   |  |
|---|--|
| Date of the actual completion of the International search | Date of mailing of the International search report |
|---|--|

5 January 2004

20/01/2004

|                                     |                    |
|-------------------------------------|--------------------|
| Name and mailing address of the ISA | Authorized officer |
|-------------------------------------|--------------------|

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax. (+31-70) 340-3016

Dauksch, H

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern: Application No  
PCT/EP 03/10399

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) |            | Publication date |
|--|------------------|-------------------------|------------|------------------|
| DE 1930265                             | A 18-12-1969     | DE                      | 1930265 A1 | 18-12-1969       |
|  |                  | FR                      | 2010982 A5 | 20-02-1970       |
|  |                  | GB                      | 1280664 A  | 05-07-1972       |
|  |                  | US                      | 3692768 A  | 19-09-1972       |

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internes Aktenzeichen  
PCT/EP 03/10399

**A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
IPK 7 C09B67/00 C12P19/00 A61K7/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 7 C09B C12P A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile                      | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| A          | DE 19 30 265 A (ASAHI CHEMICAL IND)<br>18. Dezember 1969 (1969-12-18)<br>in der Anmeldung erwähnt<br>das ganze Dokument | 1-12               |

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- \* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- \*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- \*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- \*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- \*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- \*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- \*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem Internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- \*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- \*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- \*&\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

|   |   |
|---|---|
| Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche   | Absendedatum des internationalen Recherchenberichts |
| 5. Januar 2004  | 20/01/2004  |
| Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde<br>Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2<br>NL - 2280 HV Rijswijk<br>Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,<br>Fax: (+31-70) 340-3016 | Bevollmächtigter Bediensteter<br><br>Dauksch, H     |

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Interna

Bis Aktenzeichen  
PCT, L. 03/10399

| Im Recherchenbericht<br>angeführtes Patentdokument | Datum der<br>Veröffentlichung | Mitglied(er) der<br>Patentfamilie                              | Datum der<br>Veröffentlichung                        |
|--|-------------------------------|--|--|
| DE 1930265   | A 18-12-1969                  | DE 1930265 A1<br>FR 2010982 A5<br>GB 1280664 A<br>US 3692768 A | 18-12-1969<br>20-02-1970<br>05-07-1972<br>19-09-1972 |